

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER HIPPURSÄUREAUSSCHIEDUNG
BEIM MENSCHEN

vorgelegt von

Richard Huber

aus

Bayreuth

1972 ■ 422



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548611_0079

Aus dem Institut für Rechtsmedizin der Universität
Erlangen - Nürnberg
Direktor: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

UNTERSUCHUNGEN
ÜBER HIPPURSÄUREAUSSCHEIDUNG BEIM MENSCHEN

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Friedrich-Alexander-Universität
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt
von
Richard Huber
aus
Bayreuth

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen
Fakultät der Universität Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. G. Koch

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher von Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. Dr. E. Weinig

Tag der mündlichen Prüfung: 25.7.1972

Meinem lieben Vater in
Dankbarkeit gewidmet.

Disposition

	Seit
1. <u>Einleitung</u>	6
2. <u>Problemstellung</u>	7
3. <u>Hauptteil</u>	8
3.1. <u>Erster Teil:</u>	8
Theoretische Vorbemerkungen über die Hippur- säure	
3.1.1. <u>Komponenten</u>	8
3.1.1.1. <u>Glykokoll</u>	8
3.1.1.2. <u>Benzoessäure</u>	9
3.1.2. <u>Kopplung von Glycin und Benzoessäure</u>	11
3.1.3. <u>Syntheseort</u>	12
3.1.4. <u>Chemische und physikalische Eigen- schaften der Hippursäure</u>	13
3.1.5. <u>Hippursäure und Benzoylglucuronid</u>	14
3.1.6. <u>Quantitative Hippursäureausschei- dung beim Menschen</u>	17
3.1.7. <u>Tag-Nacht-Rhythmus</u>	18
3.1.8. <u>Faktoren, welche die Hippursäure- ausscheidung beeinflussen</u>	19

	Seite
3.1.8.1. <u>Exogene Faktoren</u>	19
3.1.8.2. <u>Endogene Faktoren</u>	24
3.1.8.3. <u>Psychische Faktoren</u>	25
3.2. <u>Zweiter Teil:</u>	26
Eigene Untersuchungen	26
3.2.1. <u>Vorbereitungen der Versuche</u>	26
3.2.1.1. <u>Auswahl der Versuchsperson</u>	26
3.2.1.2. <u>Versuchstechnik</u>	26
3.2.1.3. <u>Wiederfindungsversuche</u>	32
3.2.1.3.1. Mit Benzoessäure	32
3.2.1.3.2. Mit Hippursäure	33
3.2.1.4. <u>Wahl des Pharmakons</u>	35
3.2.2. <u>Durchführung der Versuche</u>	37
3.2.2.1. <u>Leerversuch</u>	37
3.2.2.2. <u>Diätversuch</u>	37a
3.2.2.3. <u>Phenobarbital-Versuch</u>	38
3.3. <u>Dritter Teil:</u>	39
Tabellarische und graphische Darstellung der Ergebnisse	

4.	<u>Diskussion</u>	49
4.1.	<u>Leerversuch</u>	49
4.2.	<u>Diätversuch</u>	51
4.3.	<u>Phenobarbital-Versuch</u>	52
5.	<u>Zusammenfassung</u>	53
6.	<u>Literaturverzeichnis</u>	56

1. Einleitung

Vor über 140 Jahren - 1829 - gelang es von Liebig zum ersten Male, Hippursäure aus Pferdeharn zu isolieren.

Die Bedeutung der Hippursäure für den menschlichen Organismus erkannte Ure schon 12 Jahre nach ihrer Entdeckung: ein Kopplungsprodukt, vom Körper synthetisiert aus Benzoessäure und Glycin, mit Entgiftungsfunktion.

Die Ergebnisse von Tierversuchen und von Versuchen am Menschen ließen in der Folgezeit die Stellung der Hippursäure im Organismus erkennen. Ort und Vorgang der chemischen Synthese sowie individuelle physiologische Einflußgrößen auf die Ausscheidung wurden diskutiert. In letzter Zeit sind Nachforschungen über den Einfluß endogener und exogener Faktoren, wie beispielsweise Pharmaka, auf die Hippursäureausscheidung in den Vordergrund gerückt.

Zu diesen aktuellen Fragen liegen - selbst wenn man nur die Versuche am Menschen dahingehend untersucht - eine Vielzahl teils sich widersprechender Forschungsergebnisse vor. In ihrer Gesamtheit vermitteln sie von der Hippursäureausscheidung ein Bild, das noch durch weitere Untersuchungen einer Vervollständigung bedarf.

2. Problemstellung =====

In der vorliegenden Arbeit sollen in drei voneinander unabhängigen Untersuchungsreihen, die aber in sich als Ganzes zu betrachten sind, Aussagen über Werte der Hippursäureausscheidung unter verschiedenen Bedingungen gemacht werden: Die erste Versuchsreihe bestimmt zunächst die Normalwerte der Hippursäureausscheidung bei einer Versuchsperson über einen Zeitraum von 11 Tagen.

In einer zweiten Untersuchung werden die Werte unter Diätbedingungen ohne Einnahme eines Pharmakons ermittelt, um dann in einer dritten Versuchsreihe den Einfluß eines Pharmakons (in diesem Falle des Antiepileptikums und Sedativums *Phenobarbital* (*Acidum phenyläthylbarbituricum*)) auf die Ausscheidung der Hippursäure bei derselben Versuchsperson darzustellen.

Ferner soll in dieser Arbeit eine Antwort auf die Frage gesucht werden, ob ein "Wach-Schlaf-Rhythmus" bzw. "Tag-Nacht-Rhythmus" für die Hippursäureausscheidung besteht.

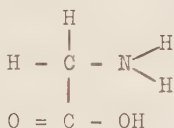
3. Hauptteil

3.1. Erster Teil

Theoretische Vorbemerkungen über die Hippur-
säure

3.1.1. Komponenten

3.1.1.1. Glykokoll (Glycin)



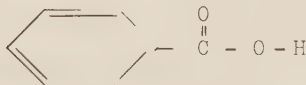
G l y c i n

Glykokoll, welches die Organe zur Entgiftung von Benzoe-
säure beanspruchen, ist eine nicht essentielle Aminosäu-
re, die in geringer Konzentration frei im Blut, in den
Geweben und Organen vorkommt. Sie kann vom Organismus
aus Zwischenprodukten des Kohlehydratstoffwechsels und
des Eiweißstoffwechsels synthetisiert oder durch Hydro-
lyse aus gespeicherten Proteinen gewonnen werden (STRUWE
1953, GARFINKEL und LAJTHA 1963, LOWE und WILLIAMS 1965
(b), FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1967).

Als Hauptbildungsweg wird die Umwandlung verwandter Ami-
nosäuren angenommen:

Glycin kann aus Serin durch Deformylierung, aus Glyoxylsäure durch Transaminierung, aus Cholin durch Oxydation und Demethylierung entstehen. Die ersten beiden Reaktionen sind reversibel. Bei der Deformylierung ist Tetrahydrofolsäure (FolH_4) Coenzym. Eine zweite Aminosäure, aus der Glycin entstehen kann, ist das Threonin und zwar vollzieht sich diese Reaktion unter Einwirkung der Threinaldolasen und liefert Essigsäure und Glycin als Endprodukte (WEBB und Mitarb. 1966, STROHMEYER und KLINGMÜLLER 1964/66, BUDECKE 1970). Da die Leber in einer bestimmten Zeiteinheit nur begrenzte Glykokoll-Mengen bereitstellen kann (im Mittel 2 mM/Std. und 100 g Körpergewicht), ist der Glycinvorrat und damit auch die Hippursäuresynthese beschränkt (ALMQUIST 1953, STRUWE 1953, LANG 1960). Die Glykokoll-Konzentration in der Leber ist abhängig von ihrem Funktions- und Ernährungszustand.

3.1.1.2. Benzoesäure



Benzoessäure

Für die Herkunft der Benzoesäure bestehen immer noch keine sicher bewiesenen Vorstellungen. Wahrscheinlich gelangt Benzoesäure über eine nicht aromatische Vorstufe, die Chinasäure, in den Organismus. Zwei Annahmen über die Herkunft stehen im Vordergrund:

einmal die Voraussetzung, die pflanzliche Nahrung enthalte bereits Benzoesäure und andererseits die Vermutung, ringförmige Aminosäuren aus dem Eiweiß kämen als Muttersubstanzen in Betracht. Außerdem wird Benzoesäure mit Speisen aufgenommen, die mit Benzoesäure oder Parahydroxybenzoesäure konserviert sind (DERACHE et GOURDON 1963, MÖLLER 1961, VAN SUMERE 1969).

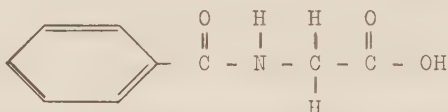
Benzoesäure stellt ein Stoffwechselprodukt dar, das nicht weiter abgebaut werden kann. Fäulnisvorgänge im Darm (STRUWE 1953), fermentative Prozesse (VOLLGRAFF 1967) und der Eiweiß-Stoffwechsel liefern kleinere Mengen Benzoesäure (BERNHARD 1955, LANG 1960, VOLLGRAFF 1967). In höheren Dosen ist Benzoesäure toxisch, sie wird nicht gespeichert (LANG 1960), normalerweise rasch resorbiert (SCHANKER 1958, VOGEL 1966), durch Konjugation mit Glykokoll entgiftet und als Hippursäure ausgeschieden.

Über die toxische Dosis beim Menschen werden unterschiedliche Angaben gemacht: sie liegen im Bereich

von 5,7 g bis 33 g Benzoesäure.

3.1.2. Kopplung von Glycin und Benzoesäure

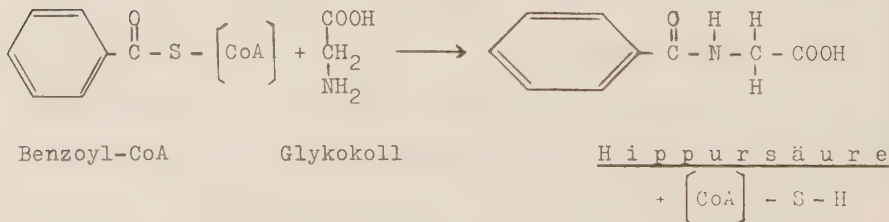
Durch die Kopplung von Glycin und Benzoesäure entsteht eine säureamidartige Verbindung - die Hippursäure.



H i p p u r s ä u r e

Dabei handelt es sich um einen O_2 -verbrauchenden, fermentativen Vorgang, der endotherm abläuft (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1954).

Untersuchungen ergaben, daß diese Synthese vom Coenzym A abhängig ist (CHANTRENNE 1951). Benzoyl-Coenzym A reagiert mit der Aminogruppe des Glykokolls unter Bildung von Hippursäure:



Die dazu nötige Energie wird aus dem oxydativen Abbau der Brenztraubensäure gewonnen, in Form von ATP gebunden, gespeichert und bei Bedarf durch Spaltung freigesetzt. Auf diese Weise kann sie auf das System, welches die Kopplung vollzieht, übertragen werden (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956, ANONYMUS 1968).

3.1.3. Syntheseort

Hippursäure ist ein normaler Bestandteil des Harns von Menschen und von vielen Tieren. Bereits 1876 nahmen v. Bunge und Schmiedeberg bei Hunden Nierendurchblutungen vor unter Zugabe von Benzoesäure und Glykokoll zur Durchströmungsflüssigkeit, und konnten sowohl im durchgeleiteten Blut als auch im aus dem Ureter abfließenden Harn Hippursäure nachweisen. An Rattenversuchen wurde von COHEN und Mc GILVERY (1946) nachgewiesen, daß ausschließlich in Niere und Leber Glykokoll und p-Aminobenzoessäure in p-Aminohippursäure umgewandelt wird, wobei die Niere eine 2,5 bis 3 mal größere Aktivität als die Leber aufweist. Beim Menschen gilt es als gesichert, daß Hippursäure in der Niere synthetisiert wird - wahrscheinlich auch in der Leber - (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, DESPOPULUS 1966).

Die Beteiligung der Leber am Synthesevorgang ist ziemlich sicher - Mitochondrien werden als verantwortliche Zellstruktur angenommen (STRUWE 1953, LANG 1960, LA DOU 1962, JOHANNSEN 1962, VOLLGRAFF 1967). Für die Leber als Syntheseort spricht, daß hier auch der biologische Prozess der Atmungskette abläuft. Er gilt als Energiespender für die Kopplung von Glycin und Benzoesäure.

Es steht fest, daß die Leber als einziges Organ Entgiftungsprozesse unabhängig durchführt, während die Niere auf die Glykokollzufuhr durch die Leber angewiesen ist.

3.1.4. Chemische und physikalische Eigenschaften der Hippursäure

Die Hippursäure ($\text{C}_6\text{H}_5 - \text{CO} - \text{NH} - \text{CH}_2 - \text{COOH}$) weist folgende Eigenschaften auf:

<u>chemische:</u>	Molekulargewicht:	179,17
<u>physikalische:</u>	Schmelzpunkt:	187,5° C
	Dichte:	1,371 bei 20° C, bez. auf Wasser von 4° C
	Brechungsindex:	$n_D = 1,535$ D = gelbe Na-Linie
	Löslichkeit:	
	in heißem Wasser:	leicht löslich

in heißem Alkohol:	löslich
in kaltem Wasser:	wenig löslich
in kaltem Alkohol:	wenig löslich
in Benzol, Petrol- äther, Schwefel- kohlenstoff:	unlöslich
es lösen sich in: 100 ml Chloroform	0,11 g Hippursäure
100 ml Äther	0,25 g Hippursäure
100 ml Wasser (20° C)	0,35 g Hippursäure
Salze:	
Ag-, Cu-, Pb-Salze	in H ₂ O schwer löslich
Fe III-Salz	unlöslich

(RAUEN 1956, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966, HALLMANN 1966, RÖMPP 1966, TEUCHY und VAN SUMERE 1969, WEISS 1970).

3.1.5. Hippursäure und Benzoylglucuronid

Der Organismus kann bis zu einer gewissen Grenze unphysiologisch hohe Benzoessäuremengen entgiften (STRUWE 1953).

Verschiedene Autoren sprechen von 90 bis 95 % Hippursäure-entgifteter Benzoessäure (FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1957, La DOU 1962). 1970 wiesen BRIDGES und seine Mitarbeiter durch Tracing mit C¹⁴-markierter Benzoessäure nach, daß

pro 1 kg Körpergewicht 1 mg Benzoesäure in 12 Stunden zu 100 % in Hippursäure umgewandelt wird. Da diese Versuche aber nur an zwei Testpersonen durchgeführt wurden, können sie nicht als allgemein gültig ausgelegt werden. Andererseits stellten BRIDGES und seine Mitarbeiter im Tierversuch fest, daß bei hohen Gaben von Benzoesäure (z.B. 50 mg/kg Körpergewicht bei Schwein, Hund u.a.) nach 24 Stunden neben 80 % Hippursäure auch 20 % Benzoesäure-Glucuronid sowie freie Benzoesäure ausgeschieden wurden.

In Versuchen am Menschen ermittelte SCHACHTER (1957) - nach Natriumbenzoatgaben von 1 g bis 10 g per os - , daß die Benzoesäure-Glucuronid-Verbindung bei der Gesamtausscheidung einen prozentualen Anstieg von 0,4 % auf 3,0 % zu verzeichnen hatte.

G. SCHMIDT hat 1956 unter Mitwirkung von WALZ, DEISEL und BURGDORF nach therapeutischer Adalinaufnahme Harnuntersuchungen durchgeführt. G. SCHMIDT kam zu dem Gesamtergebnis, daß nach Adalinaufnahme im Harn deutlich vermehrt Benzoesäure zu finden ist. Nach seinen Angaben kommt freie Benzoesäure im Urin in stark wechselnden Mengen vor ! Ebenso glaubte er, daß nach erstmaliger Aufnahme von Barbituraten, verschiedenen Pyrazolon-derivaten u.ä. ebenfalls vermehrt Benzoesäure im Harn zu finden sei.

Bei den Untersuchungen hatte eine Versuchsperson an 5 aufeinanderfolgenden Tagen 6 g Adalin eingenommen. Der gesammelte Tagesharn wurde angesäuert (mit Salzsäure), mittels Äther extrahiert und der Äther durch Warmluft verjagt. Die Rückstände wurden mit geglühtem Natriumsulfat vermengt und im Vakuum sublimiert. Dabei wurde eine Substanz isoliert, die nur in der Harnextraktion nach Adalinaufnahme gefunden wurde und die sich als α -Äthyl- α -Oxybuttersäure identifizieren ließ. Es stellte sich heraus, daß die gleichzeitig ausgeschiedene Benzoesäuremenge im Harn um so geringer war, je mehr von dieser Substanz gefunden wurde.

Im Widerspruch dazu stehen die Untersuchungen von ZIENER (1971), der in frischen Harnproben keine Benzoesäure nachweisen konnte.

Folgende Verfahren wurden von ihm angewandt:

UV - Spektroskopie

IR - Spektroskopie

Dünnschichtchromatographie

Die Chromatographie wurde auf Woelm-F-Platten durchgeführt mit einem speziell dafür entwickelten Laufmittel bestehend aus:

80 ml Chloroform

20 ml Cyclohexan

10 ml Eisessig

Mit dieser Methode ist es im Gegensatz zur Papierchromatographie möglich, Hippursäure und Benzoesäure deutlich zu trennen aufgrund ihrer sehr verschiedenen Rf-Werte (Hippursäure 0,22; Benzoesäure 0,79). Lediglich im alten, nicht sofort angesäuerten Harn konnte ZIENER (1971) Benzoesäure nachweisen: Vermutlich ist sie das Produkt der Hippuricase - eines Enzyms -, welches Hippursäure in Benzoesäure und Glycin umwandelt (FLASCHENTRÄGER 1951).

3.1.6. Quantitative Hippursäureausscheidung beim Menschen

Verschiedene Autoren geben Werte über die tägliche Hippursäureausscheidung an, die erheblich voneinander differieren:

	<u>Tagesmittelwert</u>
RÖMER und Mitarb. (1933)	0,1-1,0 g
LANG und LEHNARTZ (1953)	0,7 g
STEIN und Mitarb. (1954)	1,0-2,5 g
FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ (1957)	0,7 g
VAN SUMERE und Mitarb. (1969)	0,392 g

				<u>Durchschnitt</u>
CAMIEN und Mitarb.	(1959)			3,3 μ M/ml
PAGNATTO und Mitarb.	(1967)			0,8 g/l
IKEDA und OHTSUJI	(1969)	männl.:	301	mg/ml
		weibl.:	398	mg/ml

Die Angaben über die Maximalausscheidung unter normalen physiologischen Verhältnissen sind dagegen ziemlich einheitlich:

Maximalausscheidung (physiol.) = 1 g/die

Als maximal mögliche Hippursäureausscheidung unter unphysiologischen Bedingungen wird der Wert von 1 g pro Stunde angegeben (SCHACHTER 1957).

3.1.7. Tag- und Nachtrhythmus

Über einen "Wach-Schlaf-Rhythmus", der vielleicht in einer bestimmten Korrelation zur ausgeschiedenen Hippursäuremenge steht, liegen bisher nur sehr wenige Angaben vor.

Auch gibt es nur wenige Veröffentlichungen über ein alternierendes Detoxikationsvermögen von Leber und Niere

im Sinne eines "Tag-Nacht-Rhythmus", was sich in unterschiedlichen Hippursäurewerten widerspiegeln könnte.

GEORGI beschrieb 1950 einen 24-stündigen Rhythmus der Entgiftungsfähigkeit, wobei zwischen 23.00 Uhr und 3.00 Uhr die Hippursäureausscheidung erniedrigt war. Er stellte bei klinisch gesunden Menschen signifikante Unterschiede zwischen Tag- und Nachtwerten fest: Ein "Funktionsrhythmus des Entgiftungsvermögens", dessen Auftreten bis heute noch nicht geklärt werden kann. Da diese Ergebnisse jedoch nur bei relativ wenigen Probanden festgestellt wurden, können sie nicht als allgemein gültig betrachtet werden.

3.1.8.1. Exogene Faktoren, welche die Hippursäureausscheidung beeinflussen können

Bei den exogenen Faktoren sind an erster Stelle die Nahrungsmittel zu nennen, welche auf die Hippursäureausscheidung Einfluß haben. Man unterteilt sie danach, ob bei ihnen der Vorläufer für die Hippursäurevermehrung bekannt oder unbekannt ist.

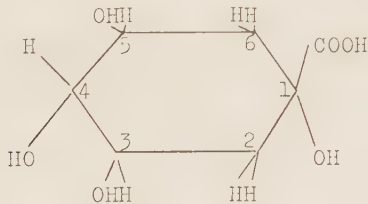
Jede dieser beiden Gruppen läßt sich wieder danach differenzieren, ob sie beim Stoffwechselabbau Benzoesäure

oder Glycin liefert.

Chinasäure (1.3.4.5 - Tetrahydroxy - Cyclohexan - Carbonsäure - 1) ist eine in der Natur sehr weit verbreitete Pflanzensäure, die hauptsächlich in Kernfrüchten, Gemüse und Beeren, aber auch in den Kaffeebohnen und vielen Pflanzenblättern vorkommt.

Für eine Aromatisierung der Chinasäure im menschlichen Stoffwechsel konnten BEER, DICKENS und PEARSON (1951) den Beweis erbringen. Aus diesem Grund wird auch die Chinasäure als Hauptlieferant für die Hippursäure angesehen.

Summenformel: $C_6H_7(OH)_4COOH$

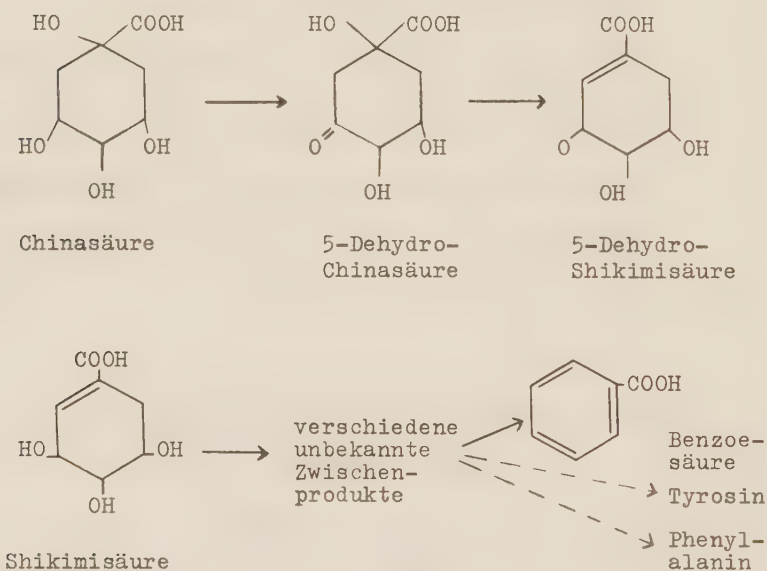


Chinasäure

Durch Aromatisierung und Dehydrierung wird Chinasäure in Benzoesäure umgewandelt und nach erfolgter Koppelung mit Glycin als Hippursäure ausgeschieden (BERNHARD,

VUILLEUMIER, BRUBACHER 1955).

Für die Aromatisierung im menschlichen Organismus kommen Darmbakterien in Betracht (BODEL und Mitarb. 1959, WILLIAMS 1959, BRIDGES und Mitarb. 1970), wobei folgender Reaktionsweg vermutet wird:



(WILLIAMS 1959, ADAMSON und Mitarb. 1970)

COTRAN und Mitarb. konnten 1960 anhand von Untersuchungen am Menschen nachweisen, daß nach Verabreichung von

Neomycin in einer Dosis, die eine Vermehrung der Darmbakterienflora bei der Versuchsperson unmöglich machte, der durch Chinasäuregaben zuvor erzielte Hippursäurespiegel rapide auf das Niveau des Kontrollwertes (Leerversuch ohne Chinasäure) oder noch tiefer absank, obwohl weiterhin Chinasäure gegeben wurde. CONTRAN zog daraus den Schluß, daß die Aromatisierung der Chinasäure durch den Ausfall der intestinalen Bakterien - aufgrund der Neomycingaben - unterblieb, was sich wiederum in einem Abfall des Hippursäurespiegels bemerkbar machte. Diese Ergebnisse konnten auch von anderen Autoren bestätigt werden (ASATOOR 1965, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1966).

Eine Steigerung der Hippursäuresynthese konnte ebenso bei einer eiweißreichen Ernährung festgestellt werden, besonders bei der Aufnahme von glycinreichen Proteinen wie Elastin und Gelatine (STRUWE 1953, FLASCHENTRÄGER und LEHNARTZ 1956).

Neben den verschiedenen Nahrungsmitteln spielen auch chemische Stoffe eine Rolle, wobei ihnen im allgemeinen eine größere experimentelle als praktische Bedeutung zukommt. Ihr Einfluß auf die Hippursäuresynthese bzw. -ausscheidung ist noch nicht vollständig geklärt. Ebenso bedarf es noch weiterer klärender Untersuchungen

inwieweit Pharmaka organische Stoffwechselvorgänge beeinflussen können. LA DOU und Mitarb. (1962), JOHANNSEN und Mitarb. (1962), VOLLGRAFF (1967) u.a. fordern bei der Durchführung des Quick-Tests vor Beginn der Untersuchung unbedingt ein mehrtägiges Intervall, da sie erhebliche Einflüsse von dieser Seite her vermuten, die sich nicht nur auf die allgemein bekannte, die Hippursäureausscheidung fördernde Wirkung der Salicylsäurepräparate beschränken. Die Salicylsäure wird vom menschlichen Organismus teils unverändert, teils als Gentisinsäure und Glucuronid oder mit Glykokoll gepaart als Salicylursäure ausgeschieden, wobei die Ausscheidung dieser Metaboliten im Urin mit steigender Dosierung zunimmt, bei einem Anstieg der Salicylatdosis aber eine relative Verminderung der Ausscheidung von Salicylursäure festzustellen ist. Ohne Einfluß bleibt dabei allerdings eine gleichzeitige Gabe von Glykokoll, obwohl beim Menschen die Verfügbarkeit von Glykokoll begrenzend auf die Bildung von Salicylursäure wirkt.

3.1.8.2. Endogene Faktoren

Außer den aufgeführten exogenen Faktoren können auch endogene Faktoren zu Funktionsstörungen im menschlichen Organismus und somit zu Veränderungen bei der Hippursäureausscheidung führen. Dazu gehören Stoffwechselerkrankungen, Parenchymschäden, Resorptionsstörungen, sowie Allgemeinerkrankungen, die direkt und indirekt auf Leber und Niere einwirken und somit auf die Hippursäureausscheidung einen Einfluß haben.

Veränderte Hippursäurewerte im Urin können bei fast allen Formen von Erkrankungen auftreten, zu denen Leber und Niere in Beziehung stehen, denn diese beiden Organe sind bekanntlich für die Mobilisation des Glykokolls, für die Paarung und die Synthese der Hippursäure verantwortlich.

Daher ist es auch verständlich, daß bei einer Versuchsperson, die die "normalen" Hippursäurewerte ermitteln soll, diese Faktoren vollständig ausgeschaltet sein müssen, da sonst völlig falsche Untersuchungsergebnisse erzielt werden. Insbesondere darf ein Proband folgende Krankheiten nicht aufweisen:

Leber- und Nierenschäden	(STRUWE 1953, FLASCHEN- TRÄGER und LEHNARTZ 1957 und 1966, JOHANN- SEN und Mitarb. 1962)
Anämie (speziell: perniziöse Anämie)	(STRUWE 1953)
lipophile Dystrophie	(STRUWE 1953)
Hyperthyreodismus	(STRUWE 1953, FLASCHEN- TRÄGER und LEHNARTZ 1956, VAN SUMERE und Mitarb. 1969)
multiple Sklerose	(VOLLGRAFF 1967)
Schizophrenie	(GEORGI 1950, STRUWE 1956)

3.1.8.3. Psychische Faktoren

Außer den eben angeführten Faktoren, die die "normalen" Hippursäurewerte bei einer Versuchsperson beeinflussen können, ist es auch möglich, daß psychische Faktoren dabei eine Rolle spielen und somit die Hippursäureausscheidung verändern können.

PERSKY und Mitarb. (1950) konnten anhand von Versuchsergebnissen nachweisen, daß beträchtliche Unterschiede in der ausgeschiedenen Hippursäuremenge zwischen ängst-

lichen und nicht ängstlichen Versuchspersonen bestehen. Grundsätzlich konnte aufgezeigt werden, daß bei furchtsamen Personen die Hippursäuremengen im Urin höhere Werte gegenüber den weniger ängstlichen erreichten (LA DOU und Mitarb. 1962, GEORGI 1950).

3.2. Zweiter Teil

Eigene Untersuchungen

3.2.1. Vorbereitungen der Versuche

3.2.1.1. Auswahl der Versuchsperson

Der Proband durfte also nicht leicht erregbar sein; außerdem durfte er an keiner der unter 3.1.8.2. "Endogene Faktoren" aufgeführten Krankheiten leiden, denn dies hätte keine "normalen" Hippursäurewerte geliefert.

Der Autor (Alter 31 Jahre, Körpergewicht 70 kg, Größe 184 cm) erfüllte diese Bedingungen.

3.2.1.2. Versuchstechnik

Um zu gewährleisten, daß die Hippuricase ausgeschaltet wird, ist frischer Urin s o f o r t mit 20 %iger

Weinsäure auf pH 2 - 3 anzusäuern und zu kühlen (FLASCHEN-TRÄGER 1951).

Von jeder gekühlten Harnportion werden je 25 ml dreimal mit je 50 ml Äther ausgeschüttelt. Dieser Ätherextrakt, mit 2 - 3 Teelöffel Natriumsulfat entwässert, wird filtriert und im Wasserbad vorsichtig abgedampft, bis ein rötlich-brauner Rückstand am Boden des zum Verdampfen verwendeten Gefäßes zurückbleibt.

Nach Abkühlung dieses Gefäßes wird der am Boden zurückgebliebene Extraktückstand in 1 ml Alkohol gelöst. Von dieser Lösung werden 0,04 ml auf eine Woelm-F-Kieselgel-Platte aufgetragen, die uns freundlicherweise von der Firma Woelm, Eschwege, zur Verfügung gestellt wurde und wofür ihr auch an dieser Stelle gedankt sei.

Anschließend wird das aufgetragene Stoffgemisch eingetrocknet. Die Platte wird in ein Laufmittelgemisch, bestehend aus 80 ml Chloroform, 20 ml Cyclohexan und 10 ml Eisessig (ZIENER 1971), gestellt. Nach etwa 90 - 120 Minuten hat die Lösungsmittelfront eine Strecke von ca. 18 - 19 cm auf der Kieselgel-Platte zurückgelegt, wobei das am unteren Rand der Platte aufgetragene Stoffgemisch in seine einzelnen Bestandteile getrennt wurde, die nach der Entwicklung der Platte als voneinander getrennte

Flecken mittels UV-Licht sichtbar gemacht werden können.

Das Verhältnis der Wanderungsstrecke der Substanz vom Aufgabepunkt zur Wanderungsstrecke der Lösungsmittelfront bezeichnet man als Rf-Wert. Er hängt von verschiedenen Variablen ab, wie Temperatur, Zusammensetzung der stationären Phase (Kieselgel) und der beweglichen Phase (Lösungsmittel).

Um unter UV-Licht die Hippursäure und eventuell vorhandene Benzoessäure eindeutig identifizieren zu können, wurde vor Einstellen der Platte in das Lösungsmittel neben dem zu untersuchenden Stoffgemisch je ein Tropfen reiner in Alkohol gelöster Hippursäure bzw. Benzoessäure aufgetragen, die ebenfalls - wie das Stoffgemisch bzw. dessen einzelne Substanzen - auf der Kieselgel-Platte nach oben wanderte und dessen Steighöhe zur Bestimmung der Steighöhe der Hippursäure aus dem Stoffgemisch herangezogen werden kann. Sodann erfolgt, noch unter UV-Licht, das Markieren der Flecken, Abkratzen und Lösen der Substanz in 5 ml Boratpuffer (pH 9,82). Nach ca. 15 Minuten wird die Lösung bei 1200 U/Min. 5 Minuten lang zentrifugiert.

1. Messung: Nach der Herausnahme aus der Zentrifuge wird von der überstehenden klaren Flüssigkeit 1 ml mit einer Pipette abgenommen, ohne dabei etwas von dem am Boden des Zentrifugenglases liegenden Bodensatzes mit aufzunehmen, und in eine Quarz-Küvette gegeben. Diese Küvette wird zusammen mit einer zweiten, die mit reinem Boratpuffer (pH 9,82) als Vergleichslösung gefüllt ist, in einen UV-Spektrographen gestellt. Sodann läßt man das Gerät einen Wellenbereich von 360 - 200 nm durchlaufen und kann aus dem Ausschlag des Anzeige-gerätes ersehen, ob die richtige Verdünnung bereits erreicht ist. Das Kriterium dafür ist die vollständige Aufzeichnung einer charakteristischen Hippursäurekurve im erwähnten Wellenbereich

(Maximum bei 225 nm;
Minimum bei 212 nm).

2. Messung: Man versetzt die in der Quarz-Küvette befindliche Flüssigkeit mit zwei kleinen Tropfen frischer konzentrierter Natronlauge, schüttelt gut durch und wartet mit dem Auf-

zeichnen der Kurve ab, bis die leicht getrübbte Flüssigkeit (nun pH ca. 14) wieder klar geworden ist (Schulter bei 227 nm).

3. Messung: Nach Zugabe von 5 - 6 Tropfen konzentrierter Schwefelsäure zu der oben erwähnten Flüssigkeit erhält man einen pH-Wert von ca. 2, Messung wie unter 1

(Maximum bei 227 nm
Minimum bei 210 nm).

3.2.1.3. Wiederfindungsversuche

Um eine Aussage über die Brauchbarkeit des beschriebenen Verfahrens machen zu können, war es nötig, Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure und Hippursäure durchzuführen. Damit wollten wir gleichzeitig die Genauigkeit unserer Versuchstechnik aufzeigen, indem wir vorher genau bestimmte Mengen der beiden Säuren zu jeweils 25 ml Urin (angesäuert mit 20 %iger Weinsäure und gut gekühlt) dazugaben, die wir nach Durchführung der unter 3.2.1.2. beschriebenen "Versuchstechnik" zum größtmöglichen Prozentsatz "wiederfinden" wollten.

3.2.1.3.1. Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure

Die Versuchstechnik war - wie bereits erwähnt - dieselbe wie oben beschrieben. Nur wurden zu jeweils 25 ml Urin vor dem dreimaligen Ausschütteln mit je 50 ml Äther noch 2.500 μ , 2.000 μ , 1.500 μ , 1.000 μ oder 500 μ Benzoesäure dazugegeben. Da Benzoesäure, aufgrund ihres geringeren Molekulargewichtes - gegenüber Hippursäure - auf der Kieselgel-Platte schneller nach oben wanderte, nahmen wir die Platte bereits nach 25 - 30 Minuten aus dem Laufmittelgemisch und konnten so in einer Steighöhe von ca. 10 cm unter UV-Licht den Benzoesäurefleck erkennen, wobei wir zu seiner Identifizierung reine Benzoesäure in Alkohol gelöst mitlaufen ließen. Die Auswertung im UV-Spektrographen erfolgte auf dieselbe Weise wie schon oben beschrieben

in Boratpuffer:	(Maximum bei 221 nm Minimum bei 211 nm)
in H ₂ SO ₄ :	(Maximum bei 229 nm Minimum bei 210 nm).

Folgende Tabelle zeigt, welche Ergebnisse mit der beschriebenen Versuchstechnik erzielt wurden:

Tabelle 1: Wiederfindungsversuche mit Benzoesäure

zu 25 ml Urin zugegeb. Menge Benzoesäure (μg)	Extink- tion der BP-Kurve λ max. $\times 100$	Ver- dün- nungs- faktor	Benzoe- säure $\mu\text{g/ml}$	wiedergef. Menge Ben- zoesäure (μg)	wiedergef. Menge Ben- zoesäure (%)
2500	69,5	9	84,93	2123,40	84,9
2500	44	12	69,75	1743,75	69,8
2500	35,5	18	79,90	1996,65	79,9
2000	67,5	6	55,13	1378,20	68,9
2000	87,5	6	70,14	1753,50	87,7
2000	80,5	6	65,25	1631,25	81,6
1500	89	4	49,75	1243,75	82,9
1500	70	5	47,50	1187,50	79,2
1000	44,5	6	35,44	886,00	88,6
1000	75	3	30,56	764,00	76,4
1000	61	3,75	31,40	785,00	78,5
500	45	2,5	15,00	375,00	75,0
500	65,5	1,5	13,44	336,11	67,2

Ergebnis: Im Mittel wurden 87,5 % der exakt definierten Benzoesäure wiedergefunden.

In zusätzlichen Versuchen konnten wir spektrophotometrisch bis zu einem Grenzwert von $6,7 \text{ g/ml}$ Benzoesäure nachweisen. Niedrigere Werte ließen keine charakteristische Benzoesäurekurve mehr erkennen, jedoch waren auf der Dünnschichtplatte im UV-Licht noch 1-2 g zu erkennen.

3.2.1.3.2. Wiederfindungsversuche mit Hippursäure

Auch hier hielten wir uns zum großen Teil an die erwähnte Versuchstechnik. Nachdem wir, wie unter 3.2.1.2. "Versuchstechnik" beschrieben, den Hippursäuregehalt von 25 ml einer Urinportion ermittelt hatten, nahmen wir von derselben Urinportion, die wir in der Zwischenzeit weiterhin gut gekühlt hatten, nochmals 25 ml und gaben dazu 50 % der für 25 ml dieser Urinportion ermittelten Hippursäuremenge. Dann erfolgte die weitere Aufbereitung und Auswertung nach der oben erwähnten Methode. Bei der Berechnung mußte nun - im Idealfall - ein um 50 % höherer Hippursäurewert auftreten als er ohne diese "Zusatz"-Hippursäure ermittelt worden war.

Tabelle 2: Wiederfindungsversuche mit Hippursäure

in 25 ml Urin ent- haltene Menge Hippur- säure (μ g)	zugegeb. Menge Hippur- säure (1/2 von Spaltel) (μ g)	Ex- tink- tion d.BP- Kurve λ max. $\times 100$	Ver- dün- nung	Hip- pur- säure μ g/ml	wieder- gefund. Menge Hippur- säure (μ g)	Aus- beute an Hip- pur- säure (μ g)	gefundene Menge zu zugegeb. Hippur- säure in %
8400	4200	94,5	24	19,2	11520	3120	74,3
7460	3700	90,5	22,5	18,4	10350	2890	78,1
4650	2300	85	15	17,3	6488	1838	79,5
10810	5400	78,5	35	16	14000	3190	59,1
8880	4500	91,5	27	18,6	12555	3675	81,7
2980	1500	54,5	15	11,1	4163	1183	78,9
2980	1500	57,5	15	11,7	4388	1408	93,9

Ergebnis: Im Mittel wurden 77,9 % der künstlich hin-
zugefügten Hippursäuremenge wiedergefunden.

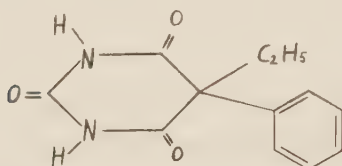
3.2.1.4. Wahl des Pharmakons

Als Medikament wurde das Antiepileptikum und Sedativum Phenobarbyl gewählt.

Summenformel: $C_{12}H_{12}N_2O_3$

Molekulargewicht: 232,2

Strukturformel:



Acidum phenylaethyl-
barbituricum

Systematischer Name: 5-Äthyl-5-phenyl-barbitursäure

Beschreibung: Farblose Kristalle oder weißes kristallines Pulver; schwach bitterer Geschmack

Löslichkeit:

Äthanol, Aceton	leicht löslich
Äther	löslich
Wasser siedend, Chloroform	wenig löslich
Wasser von 20°	sehr schwer löslich
Verd. Alkalilaugen	unter Salzbildung löslich

Herstellung und Luminal (Bayer, Merck)

Vertrieb: Phenaemal (Woelm)

Phenobarbyl (Synochem)

I n d i k a t i o n e n :

- 1) Als Antiepileptikum: Neben seinen hypnotischen Eigenschaften, die es als Barbiturat besitzt, hat Phenobarbyl eine ausgesprochene Hemmwirkung auf zentral ausgelöste Krämpfe, insbesondere auf solche epileptischer Genese. Es ist speziell indiziert beim großen epileptischen Anfall (grand mal) und nicht geeignet für die Behandlung von psycho-motorischen epileptischen Zuständen. Bei der erforderlichen Langzeitbehandlung sind Nebenwirkungen kaum zu vermeiden. Sie bestehen in Schläfrigkeit bis zur Somnolenz, Antriebslosigkeit, Ataxie.

Die Resorption der Substanz aus dem Magen-Darm-Kanal erfolgt langsam (innerhalb 1 bis 2 Stunden); Die Elimination einer Einzeldosis dauert einige Tage an. Deshalb ist eine ausgesprochene Kumulation vorhanden. Etwa 30 % einer Einzeldosis werden unverändert im Harn ausgeschieden; ein Teil wird in der Leber zu Oxyphenylbarbitursäure oxydiert, der Rest zu noch nicht bekannten Produkten abgebaut.

- 2) Als Sedativum: Kleine Dosen setzen lediglich eine nervöse Übererregbarkeit herab. Angesichts der langsamen Elimination ist die Wirkung nachhaltig. Bei

richtiger Dosierung sind Nebenwirkungen selten, da dann eine Kumulation ausbleibt.

Dosierung: Einnahme als Antiepileptikum 0,1 bis 0,3 g bis zu 3 mal täglich, als Sedativum 0,015 bis 0,03 g 2 bis 3 mal täglich.

(BÖHME und HARTKE 1968)

3.2.2. Durchführung der Versuche

3.2.2.1. Leerversuch

Der Leerversuch wurde durchgeführt um die folgenden individuellen "Normalwerte" der Hippursäureausscheidung bei einer Versuchsperson festzustellen:

Hippursäuremenge je Einzelausscheidung

Hippursäuremenge je 100 ml Urin einer
Einzelausscheidung

Hippursäuremenge je Tag.

Während der Durchführung des Leerversuches, lie sich über einen Zeitraum von 8 Tagen erstreckte, legten wir uns folgende Bedingungen auf:

- 1) mehrtägiges medikamentenfreies Intervall vor Versuchsbeginn
- 2) Ernährung durch Normalkost, wobei in einem "Speiseplan" Datum, Uhrzeit, Menge und Art der Speisen festgehalten wurden.
- 3) Sammeln jeder einzelnen Urinausscheidung unter Festhalten von Datum, Uhrzeit und Menge.
- 4) Sofortige Zugabe von 20 %iger Weinsäure mit schnellstmöglicher Aufbereitung des Urins - nur in Ausnahmefällen Kühlung bis zur Untersuchung.
- 5) Keine Medikamenteneinnahme während der Dauer der Versuche.

3.2.2.2. Diät-Versuch

In dieser Versuchsreihe, die sich über 13 Tage erstreckte, sollte der "Minimalwert" der Hippursäureausscheidung der Versuchsperson unter "Diätbedingungen" eruiert werden.

Damit sollte also aufgezeigt werden, bis zu welchem Minimalwert die Hippursäureausscheidung der Versuchsperson gesenkt werden könnte, wenn alle diejenigen Nahrungsmit-

tel nicht aufgenommen würden, die die Chinasäure als Bestandteil ihrer Strukturformel enthielten, also Obst, Gemüse, Kaffee, Tee usw.

3.2.2.3. Phenobarbital-Versuch

Die sich daran anschließende Versuchsreihe sollte nun aufzeigen, ob und in welchem Maß Phenobarbital auf die Hippursäureausscheidung der gleichen Versuchsperson Einfluß hat. Dabei wurde das Medikament erst eingenommen als die "Minimalwerte unter Diätbedingungen" über 10 Tage hinweg konstant blieben. Die Einnahme des Pharmakons war in diesem Falle

2 Tbl. Phenobarbital = 0,6 g
morgens 0,815 Uhr

Nach der Einnahme des Pharmakons trat eine leichte Somnolenz auf, die aber - unter Überwachung - in Kauf genommen wurde, um die Möglichkeit einer Verfälschung der Ergebnisse durch einen etwa bestehenden "Wach-Schlaf-Rhythmus" auszuschließen.

3.3. Dritter Teil

Tabellarische und graphische Darstellung der Ergebnisse

In den folgenden drei Tabellen sind alle gemessenen und errechneten Ergebnisse zusammengestellt, die beim Leerversuch, beim Leerversuch unter Diätbedingungen ohne Einnahme des Pharmakons und beim Phenobarbital-Versuch ermittelt wurden.

Tabelle 3: Leerversuch

Urin- probe	Extink- tion der BP-Kurve $\lambda_{\max}$ x 100	Verdün- nungs- faktor	Hippur- säure / $\mu\text{g/ml}$	Urin- menge ml	Hippursäure je Probe		Tages- menge Hippur- säure (mg)
					mg %	mg ges.	
10/II	76,5	20	14,1	430	28,2	121,26	169,14
11/I	43	30	7,6	210	22,8	47,88	
11/II	65	25	13,2	430	33	141,90	189,22
12/I	83	10	16,9	280	16,9	47,32	
12/II	87	25	17,7	320	44,25	141,60	252,52
13/I	89,5	20	18,2	305	36,40	110,92	
13/II	82	25	16,7	325	41,75	135,69	266,42
14/I	81,5	25	16,6	315	41,50	130,73	
14/II	86	35	17,5	410	61,25	251,13	538,76
15/I	96	50	19,5	295	97,50	287,63	
15/II	58	25	11,8	375	29,50	110,63	334,42
16/I	68,5	35	13,9	460	48,65	223,79	
16/II	85,5	45	17,4	250	78,30	195,75	302,94
17/I	86	35	17,5	175	61,25	107,19	
26/II	78,5	21	16	300	33,60	100,80	184,40
27/I	98	15	19,9	280	29,85	83,60	
27/II	61	15	12,4	320	18,60	59,52	152,50
28/I	85	25	17,3	215	43,25	92,98	

Tabelle 4: Diät-Versuch

Urin- probe	Extink- tion der BP-Kurve $\lambda_{\max}$ x 100	Ver- dün- nungs- faktor	Hippur- säure / μ g/ml	Urin- menge ml	Hippursäure je Probe		Tages- menge Hippur- säure (mg)
					mg %	mg ges.	
28/II	73	24	14,8	320	35,52	113,66	152,25
29/ I	89,5	9	18,2	235	16,38	38,59	
29/II	97,5	12	19,8	290	23,76	68,90	105,72
31/ I	50	9	10,1	405	9,09	36,82	
Beginn der "Diätwerte"							
30/II	64,5	7,5	13,1	380	9,82	37,31	68,26
31/ I	61,5	7,5	12,5	330	9,38	30,75	
31/II	46	9	9,3	240	8,47	20,32	68,20
1/ I	69	9	14,0	380	12,60	47,88	
1/II	81	7,5	16,5	305	12,38	37,76	70,57
2/ I	78	7,5	15,9	275	11,93	32,81	
2/II	50,5	7,5	10,2	480	7,65	36,72	77,76
3/ I	100	5,25	20,3	385	10,66	41,04	
3/II	88,5	6	18	385	10,80	41,58	70,15
4/ I	68	6	13,8	345	8,28	28,57	
4/II	83,5	6	17	420	10,20	42,84	79,44
5/ I	66,5	6	13,5	445	8,10	36,60	
5/II	96	6	19,5	430	9,70	41,71	76,69
6/ I	64,5	6	13,1	445	7,86	34,98	
6/II	79	9	16,1	315	14,49	45,65	82,60
7/ I	76	9	15,5	265	13,95	36,95	
7/II	66	6	13,4	530	8,04	42,61	80,31
8/ I	70	9	14,2	295	12,78	37,70	
8/II	83,5	6	17	455	10,20	46,41	82,57
9/ I	72,5	6	14,7	410	8,02	36,16	

Tabelle 5: Phenobarbital-Versuch

Urin- probe	Extink- tion der BE-Kurve $\lambda_{\max}$ x 100	Ver- dün- nungs- faktor	Hippur- säure / $\mu\text{g/ml}$	Urin- menge ml	Hippursäure je Probe		Tages- menge Hippur- säure (mg)
					mg %	mg ges.	
am 9.11. um 8.15 Uhr Einnahme des Pharmakons							
9/II	82	6	16,7	545	10,02	54,61	81,14
10/ I	66	6	13,4	330	8,04	26,53	
10/II	93,5	6	19	315	11,40	35,91	75,76
11/ I	40,5	9	8,2	540	7,38	39,85	
11/II	58	6	11,8	475	7,08	33,63	77,41
12/ I	94,5	6	19,2	380	11,52	43,78	
12/II	83,5	6	17,0	415	10,20	42,33	76,90
13/ I	84,5	6	17,2	335	10,32	34,57	
13/II	72	6	14,6	495	8,76	43,26	78,60
14/ I	92	6	18,7	315	11,22	35,34	
14/II	65	6	13,2	565	7,92	41,72	70,06
15/ I	89	6	18,1	260	10,86	28,34	
15/II	93,5	6	19,0	365	11,40	41,61	70,57
16/ I	62,5	6	12,7	380	7,62	28,96	

Ende der "Diät"

Tabelle 6: Übergang auf Normalkost

Urin- probe	Extink- tion der BP-Kurve λ max x 100	Ver- dün- nungs- faktor	Hippur- säure / μ g/ml	Urin- menge ml	Hippursäure je Probe		Tages- menge Hippur- säure (mg)
					mg %	mg ges.	
16/II	66,5	10	13,5	515	13,50	69,53	121,79
17/ I	76,5	10	15,6	335	15,60	52,26	
17/II	92	15	18,7	470	28,05	131,84	213,29
18/ I	89	20	18,1	225	36,20	81,45	
18/II	90	25	18,3	300	36,60	137,25	328,77
19/ I	82,5	30	16,8	380	50,40	191,52	
19/II	43,5	20	8,8	480	17,60	84,48	264,21
20/ I	89,5	25	18,2	395	45,50	179,73	

Abb. 1 Leerversuch: Hippursäuremenge [mg] je Portion Urin



Abb. 2 Leerversuch: Hippursäuremenge [mg%] je Portion Urin



Abb. 3 "Leerversuch: Hippursäuremenge [mg] pro Tag

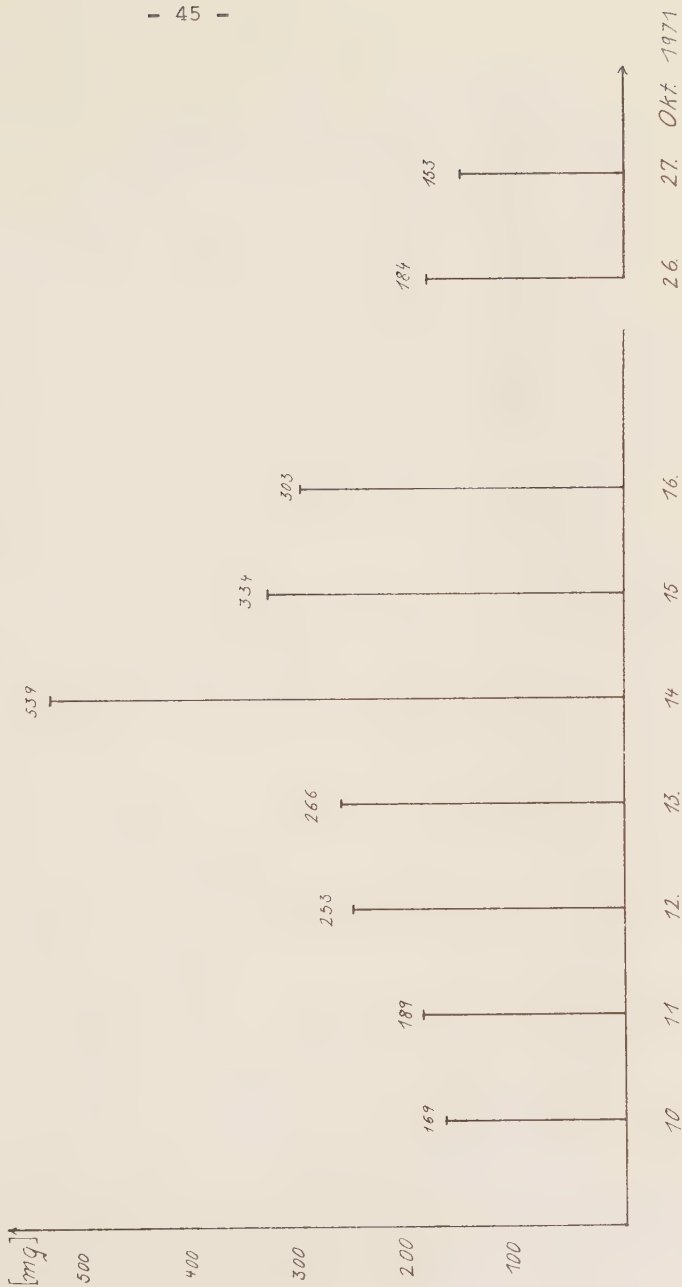


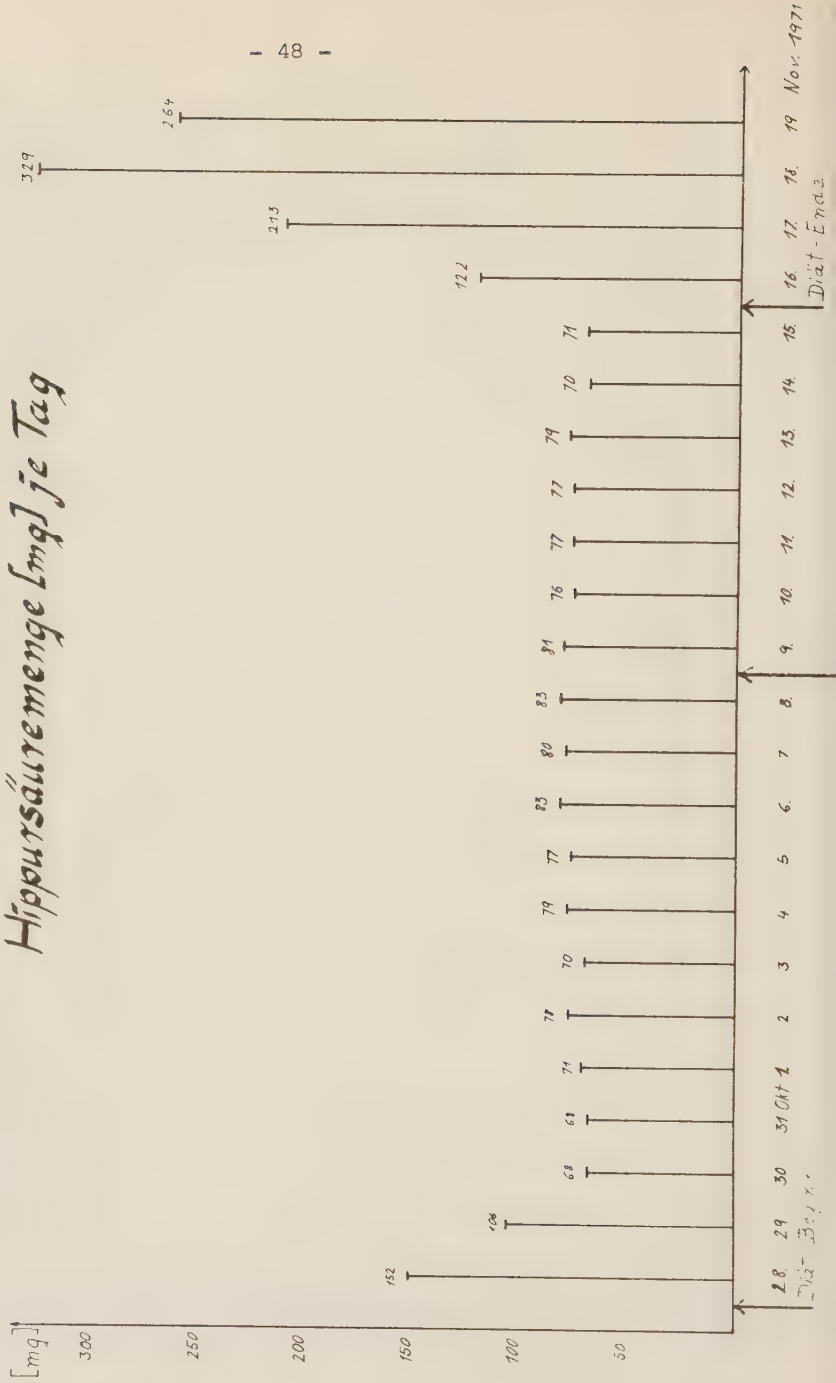
Abb. 4 Diät- und Phenobarbital-Versuch: Hippursäuremenge [mg] je Portion Urin



Abb. 5 Diät- und Phenobarbital-Versuch:
Hippursäuremenge [mg %] je Portion Urin



Abb. 6 Diät- und Phenobarbital-Versuch:
Hippursäuremenge [mq] je Tag



4. Diskussion =====

4.1. Leerversuch

Der Hippursäure wird in den letzten Jahren vermehrt Interesse entgegengebracht, was sich anhand der Veröffentlichungen, die sich mit der Hippursäure im menschlichen und tierischen Organismus durch experimentelle Versuche beschäftigen, leicht beweisen läßt. Dabei stehen die Untersuchungen hinsichtlich der Faktoren, die auf die Hippursäureausscheidung einen Einfluß haben, immer mehr im Vordergrund.

Obwohl gerade in diesen Veröffentlichungen viele Widersprüche auftraten, kann man doch in allen Arbeiten feststellen, daß sie die Hippursäure nach ihrer Entstehung in zwei Arten einteilen:

1. die unter physiologischen Bedingungen gebildete Hippursäure, d.h. die Hippursäure, die unter normalen Bedingungen, also bei "Normalkost", entsteht;
2. die Hippursäure, die nach künstlicher Zufuhr von Benzoessäure entsteht und somit als klinischer Beweis für die Leistungsfähigkeit von Leber und Niere gelten kann.

Den Kliniker versetzt eine kontrollierbare Hippursäureausscheidung in die Lage, aufgrund einer reduzierten Ausscheidung eine Aussage über evtl. auftretende Leber- und Nierenschäden machen zu können, bevor sie durch klinische Symptome auftreten.

In letzter Zeit wurden zwar immer neue endogene und exogene Faktoren gefunden, die auf die Hippursäureausscheidung einen Einfluß haben könnten, doch konnte man sich nicht auf einen "Normalwert" einigen, da die Angaben zwischen 0,1 und 2,5 g Hippursäure/Tag schwanken.

Mit der vorliegenden Arbeit sollte der "Normalwert" der Hippursäureausscheidung unter normalen Ernährungsbedingungen und anschließend der "Minimalwert" unter "Diätbedingungen" eruiert werden.

Dabei wurden folgende Ergebnisse gemessen:

Unter normalen Ernährungs- bedingungen	Hippursäuremenge, die mit einer Portion Urin ausgeschieden wurde:	
	niedrigste	höchste
	47,32 mg	287,63 mg

Unter normalen Ernährungsbedingungen war zwischen niedrigstem und höchstem Wert eine Steigerung um das sechs-

fache festzustellen. Die untere Grenze der Hippursäureausscheidung je Portion Urin lag bei der Versuchsperson bei knapp 50 mg. Die Schwankungsbreite von 47,32 bis 287,63 mg Hippursäure je Urinausscheidung darf man als physiologisch ansehen, ebenso wie die Breite der Tagesausscheidung von 153 bis 539 mg.

Der Durchschnittswert der ausgeschiedenen Hippursäure pro Tag betrug unter normalen Ernährungsbedingungen 265,59 mg/die.

Ein Tag - Nacht - Rhythmus in der Hippursäureausscheidung konnte nicht festgestellt werden.

4.2. Diät-Versuch

Während unter normalen Ernährungsbedingungen eine sechsfache Steigerung zwischen niedrigster und höchster Hippursäuremenge, die mit einer Portion Urin ausgeschieden wurde, gemessen wurde, war unter "Diätbedingungen" nur eine zweieinhalbfache Steigerung zu beobachten.

niedrigster Wert: 20,32 mg

höchster Wert: 54,61 mg

Zehn der Werte liegen zwischen 35 und 40 mg, wo auch der Mittelwert zu suchen ist.

Bei den Tageswerten ist die Schwankung noch wesentlich geringer und liegt zwischen 68,2 und 82,6 mg. Der Durchschnittswert beträgt 75,7 mg/die, die Abweichung davon ist also maximal $\pm 10\%$.

Durch die Einhaltung eines exakt geführten Speiseplanes während der Zeit vor und nach Einnahme des Pharmakons (= "Diätbedingungen") konnte erreicht werden, daß die Tagesausscheidung von Hippursäure auf einem relativ konstanten Wert blieb.

4.3. Phenobarbital-Versuch

Als nach mehreren Tagen die Hippursäureausscheidung des Probanden den "Diätwert" sicher erreicht hatte, wurden 2 Tabletten Phenobarbital in Form von Phenobarbyl der Firma Synochem eingenommen.

Die "Diät" wurde auch in den darauffolgenden Tagen noch beibehalten, um eine genaue Aussage über eine Beeinflussung durch das Medikament machen zu können. Dabei ergab sich, daß auch nach Einnahme des Pharmakons - abgesehen von den physiologischen Tagesschwankungen - keinerlei Abweichungen bei den Hippursäurewerten festzustellen waren.

5. Zusammenfassung

Im ersten Teil der vorliegenden Arbeit wurde aus den Dissertationen von I. KADELBURG (1971) und R. PIECHOTKA (1972) das Wesentliche aus der Literatur über die Hippursäure zusammengestellt. Daraus ergab sich auch die Problemstellung zu dieser Arbeit:

Bestimmung der Normalwerte der Hippursäureausscheidung unter normalen Ernährungsbedingungen, anschließend bei Diät und schließlich nach Einnahme eines Pharmakons, in diesem Falle Phenobarbital unter Diätbedingungen.

Im folgenden sind die gefundenen Werte den Literaturangaben gegenübergestellt:

Unter normalen Ernährungsbedingungen

Tagesmittelwert:	0,266 g
(- 0,7 g	LANG und LEHNARTZ, 1953)
(- 0,392 g	VAN SUMERE u. Mitarb. 1969)
Maximalausscheidung/die:	0,539 g (1 g)
Minimalausscheidung/die:	0,153 g

Unter Diätbedingungen

Tagesmittelwert:	0,076 g
Maximalausscheidung/die:	0,083 g
Minimalausscheidung/die:	0,068 g

Schon im literarischen Teil dieser Arbeit wurde darauf hingewiesen, daß ein "Tag-Nacht-Rhythmus" von verschiedenen Autoren erwähnt wurde. Ein solcher Rhythmus konnte aber in den von mir durchgeführten Versuchsreihen nicht festgestellt werden. Die Hippursäureausscheidung war lediglich vor dem Schlafengehen meist etwas größer als nach dem Aufstehen; d.h. im "Abendurin" fand sich mehr Hippursäure als im "Morgenurin".

Einfluß von Phenobarbital auf die Hippursäureausscheidung

Obwohl eine Dosis dieses Medikaments, die weit über die normalen Tagesdosen hinausging (DAB 7), eingenommen wurde, konnte keine Erhöhung oder Verminderung der Hippursäureausscheidung unter eingeschränkten Ernährungsbedingungen ("Diät") nachgewiesen werden.

Die statistische Auswertung der Messungen ergab folgendes:

Vor der Einnahme des Pharmakons wurde zehn Tage lang bei Einhaltung einer Diät täglich die Hippursäureausscheidung gemessen. Der Mittelwert dieser Messungen beträgt 75,66 mg/Tag, die Standardabweichung 5,81 mg.

Nach der Einnahme des Pharmakons wurden weiter sieben Tage lang Messungen durchgeführt, deren Mittelwert

75,77 mg/Tag beträgt. Die Standardabweichung ist 4,1 mg. Mit Hilfe der t-Prüfung (DOERFFEL 1965) wurden die beiden Mittelwerte verglichen. Ein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Werten ist mit 99,9 %iger Wahrscheinlichkeit auszuschließen. Die Differenz von 0,11 mg ist zufälliger Natur.

Abschließend sei nochmals darauf hingewiesen, daß entgegen den Aussagen von G.SCHMIDT (1956) und K. WALZ (1954) in den 40 Tagen, während diese Versuchsreihe der vorliegenden Arbeit ablief, im frischen, angesäuerten Urin **k e i n e S p u r** von ausgeschiedener **B e n - z o e s ä u r e** gefunden wurde.

6. Literaturverzeichnis

=====

1. ADAMSON, R.H., J.W. BRIDGES, M.E. EVANS,
R.T. WILLIAMS:
Species differences in the aromatization of
quinic acid in vivo and the role of gut bacteria.
Biochem. J. 116, 437 (1970)
2. ALMQUIST, H.J.:
Principles of amino acid balance.
Arch. Biochem. 46, 250 (1953)
3. ANONYMUS:
Documenta Geigy - Wissenschaftliche Tabellen.
7. Auflage Pharma
Basel 1968
4. BEER, C.T., F. DICKENS, J. PEARSON:
The aromatization of hydrogenated derivatives of
benzoic acid in animal tissues.
Biochem. J. 48, 222 (1951)
5. BERNHARD, K., J.P. VUILLEUMIER, G. BRUBACHER:
Zur Frage der Entstehung der Benzoesäure im
Tierkörper.
Helv. Chim. Acta II, 1438 (1955)
6. BODEL, Ph.T., R. COTRAN, E.H. KASS:
Cranberry juice and the antibacterial action
of hippuric acid.
J. Lab. Clin. Med. 54, 881 (1959)

7. BÖHMER, A., A. JUCKENACK, J. TILLMANS:
Handbuch der Lebensmittelchemie.
I, "Allgemeine Bestandteile der Lebensmittel"
Springer, Berlin 1933
8. BRIDGES, J.W., M.R. FRENCH, R.L. SMITH,
R.T. WILLIAMS:
The fate of benzoic acid in various species.
Biochem. J. 118, 47 (1970)
9. CAMIEN, M.N., A.V. FOWLER, M.S. DUNN:
Determination of apparent hippuric acid and free
glycine in urine by microbiological assay.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 102, 104 (1959)
10. COTRAN, R., M.L. KENDRICK, E.H. KASS:
Role of intestinal bacteria in aromatization
of quinic acid in man and guinea pig.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 104, 424 (1960)
11. DEISEL, K.:
Untersuchung zur Frage der Ausscheidung
von Bromdiäthylacetylcarbamid im Harn.
Dissertation Erlangen (1955)
12. DERACHE, R., J. GOURDON:
Métabolisme d'un conservateur alimentaire:
l'acide parahydroxybenzoïque et ses esters.
Food. Cosmet. Toxic. 1, 189 (1963)
13. DESPOPOULOS, A.:
Congruence of excretory function in liver
and kidney: hippurates.
Amer. J. Physiol. 210, 760 (1966)

14. DOERFFEL, K.:
Beurteilung von Analysenverfahren und -ergebnissen.
Springer, Berlin 1965
15. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Ein Lehr- und Handbuch für
Ärzte, Biologen und Chemiker". Bd. 1 "Die Stoffe"
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1951
16. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
17. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 1b
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1954
18. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2a
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1956
19. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II, 2b
Springer, Berlin-Göttingen-Heidelberg 1957
20. FLASCHENTRÄGER, B., E. LEHNARTZ:
Physiologische Chemie "Der Stoffwechsel" II 2d
Springer, Berlin-Heidelberg-New York 1966
21. GARFINKEL, D., A. LAJTHA:
A metabolic inhomogeneity of glycine in vitro.
J. Biol. Chem. 238, 2429 (1963)

22. GEORGI, F.:
Konstitutionspathologische Probleme bei
endogenen Psychosen.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 185, 603 (1950)
23. HALIMANN, L.:
Klinische Chemie und Mikroskopie.
10. Auflage
Thieme, Stuttgart 1966
24. IKEDA, M., H. OHTSUJI:
Hippuric acid, phenol and trichloroacetic acid
levels in urine of Japanese subjects with no
known exposure to organic solvents.
Brit. J. Industr. Med. 26, 162 (1969)
25. JOHANNSEN, W.H., S.H. FRIEDMANN, E.I. FELDMANN,
A. NEGRETE:
A re-examination of the hippuric acid-anxiety
relationship.
Psychosom. Med. 24, 569 (1962)
26. KADELBURG, I.:
Dissertation Erlangen (1971)
27. LA DOU, J., G.L. ELLMAN, E. CALLAWAY,
I.F. EDMISTER, R.L. CHRISTENSEN:
Correlates of manifest anxiety.
J. Psychosom. Res. 6, 41 (1962)
28. LANG, K.:
Verträglichkeit der Benzoesäure.
Zschr. Lebensmittelunters. Forsch. 112, 394 (1960)

29. LOWE, G., A. WILLIAMS:
Papain catalysed hydrolysis of some hippuric esters.
Biochem. J. 96, 199 (1965)
30. MÖLLER, K.O.:
Pharmakologie.
4. Auflage
Benno Schwabe & Co., Basel/Stuttgart 1961
31. PAGNOTTO, L.D., L.M. LIEBERMAN:
Urinary hippuric acid excretion as an index of toluene exposure.
Amer. Industr. Hyg. Ass. J. 28, 129 (1967)
32. PIECHOTKA, R.:
Dissertation Erlangen in Vorbereitung
33. RAUEN, H.M.:
Biochemisches Taschenbuch.
Springer, Münster 1956
34. RÖMPP, H.:
Chemie Lexikon.
6. Auflage
Franckh'sche Verlagsbuchhandlung, Stuttgart 1966
35. SCHACHTER, D.:
The chemical estimation of acyl glucuronides and its application to studies on the metabolism of benzoate and salicylate in man.
J. Clin. Invest. 36, 297 (1957)

36. SCHANKER, L.A., D.J. TOCCO, B.B. BRODIE,
C.A.M. HOGGEN:
Absorption of drugs from the rat small intestine.
J. Pharmacol. Exp. Ther. 123, 81 (1958)
37. SCHMIDT, G.:
Vorkommen und Ausscheidung von α -Äthyl-
 α -oxybuttersäure nach Adalinalaufnahme.
Arch. Exper. Path. Pharmacol. 229, 67 (1956)
38. STROHMEYER, G., V. KLINGMÜLLER:
Über Kupplungsprodukte aus Glutaminsäure,
Glutamin, Asparagin und aromatische Carbonsäuren.
Clin. Chim. Acta 9, 285 (1964)
39. STRUWE, F.E.:
Untersuchungen an Schizophrenen mit der
kombinierten Hippursäureprobe und mit
Serumlabilitätsreaktionen.
Schriftenreihe LKH, Schleswig-Stadtfeld 2, (1953)
40. TEUCHY, H., C.F. VAN SUMERE:
Quantitative thin-layer chromatographic
determination of hippuric acid in rat urine.
Clin. Chim. Acta 25, 79 (1969)
41. VAN SUMERE, C.F., H. TEUCHY, H. PE. R. VERBEKE,
J. BEKAERT:
Quantitative investigation on the hippuric
acid formation in healthy and diseased
individuals.
Clin. Chim. Acta 26, 85 (1969)

42. VOGEL, G., J. STOECKERT, U. TERVOOREN:
Hemmung renal tubulärer Substanztransporte
durch Diuretica.
Naunyn Schmiedeberg Arch.Pharm.Exp.Path. 255, 245 (1966)
43. VOLLGRAFF, G.:
Entgiftungs- und Ausscheidungskapazität
verschiedener Formen der multiplen Sklerose
im kombinierten Hippursäuretest.
Psychiat. Neurol. 145, 50 (1967)
44. WALZ, K.E.:
Beitrag zur Frage der Ausscheidung und des
Nachweises von Adalin im Harn.
Dissertation, Erlangen (1954)
45. WEBB, R.E., E. SHAH, E.L.R. STOKSTAD:
Effect of folic acid and vitamin B₁₂ on excretion
of hippuric acid and formimino-glutamic acid.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 121, 19 (1966)
46. WEISS, G.:
Diagnostische Bewertung von Laborbefunden.
J.F. Lehmann, München 1970
47. WILLIAMS, R.T.:
Detoxication Mechanisms.
2. Auflage
Chapman & Hall, LTD London 1959

Lebenslauf

Name: Richard Günter H u b e r

Ich wurde am 16. Juli 1940 als Sohn des Facharztes für HNO-Krankheiten Dr. med. Richard Huber und seiner Ehefrau Annemarie Huber, geb. Jörg, in Bayreuth geboren.

Nach der Volksschulzeit an der Graserschule in Bayreuth besuchte ich die ersten 4 Jahre das Humanistische Gymnasium in Tegernsee, wo ich im Internat "Albertinum" untergebracht war. Die übrige Zeit der höheren Schule ging ich in das Gymnasium "Christian-Ernestinum" in Bayreuth, wo ich 1962 das Abitur ablegte.

Im Wintersemester 1962/63 nahm ich das Studium der Zahnmedizin an der Friedrich-Alexander-Universität in Erlangen auf, absolvierte dort 1965 das Physikum und im Juli 1969 das Staatsexamen.

Von Januar 1970 bis Ende September 1971 war ich als Truppenarzt in der Saarburg-Kaserne Landsberg tätig, anschließend machte ich die Versuche für meine Doktorarbeit in Erlangen.

Vom 10. Januar 1972 bis 10. Juli 1972 arbeitete ich als Assistent bei Herrn Schubert, Zahnarzt in Allersberg.

Ich beabsichtige, am 1. September 1972 in Bayreuth eine eigene Zahnarztpraxis zu eröffnen.

Herrn Professor Dr. Dr. E. Weinig danke ich für die freundliche Unterstützung durch Überlassung eines Arbeitsplatzes, für Ratschläge bei der Abfassung der Arbeit und die Übernahme des Korreferates.

Ich bedanke mich sehr herzlich bei Frau Professor Dr. Dr. M. Geldmacher-v.Mallinckrodt für die Überlassung des Themas. Ihre zahlreichen guten Ratschläge, ihre große Hilfsbereitschaft und ihr freundliches Entgegenkommen waren mir eine große Hilfe und verpflichten mich zu größtem Dank.

